Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
(Direktor: Prof. Dr. Klapp)

Histologische Veränderungen an der Epiphyse und den Harn ableitenden Wegen bei der experimentell gesetzten A-Avitaminose

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktor-Grades in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Pius Leonhard Burgmann
aus Storojinetz (Rumänien)

Marburg-Lahn 1939

Druck Parzeller & Co.
vormals Fuldaer Actiendruckerei, Fulda

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am 9. 9. 1939

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Referent: Doz. Dr. Lauber

Korreferent: Prof. Dr. Klapp

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Histologische Veränderungen an der Epiphyse und den Harn ableitenden Wegen bei der experimentell gesetzten A-Avitaminose.

A. I. Beschreibung der in der Literatur vorhandenen Ergebnisse über die Wirkung der A-Avitaminose auf das Knochensystem mit besonderer Berücksichtigung der Wirkung auf die Epiphyse.

II. Berichte über die wichtigsten Veränderungen der harnableitenden Wege bei der A-Avitaminose in der bisher erschienenen Literatur.

B. Versuche und ihre Auswertung

1. Versuchstechnik.

2. Das klinische Bild der Versuchstiere.

3.a) Die Ergebnisse der mikroskopischen und röntgenologischen Untersuchungen der Epiphyse.

b) Die Ergebnisse der mikroskopischen und röntgenologischen Untersuchungen der harnableitenden Wege.

C. Zusammenfassung.

A. I. Beschreibung der in der Literatur vorhandenen Ergebnisse über die Wirkung der A-Avitaminose auf das Knochensystem mit besonderer Berücksichtigung der Wirkung auf die Epiphyse.

Die Frage der Wirkung der A-Avitaminose auf das Knochensystem und auf die harnableitenden Wege gewinnt z. Zt. große praktische sowie auch theoretische Bedeutung, da es zahlreiche Probleme birgt, die für die praktische Chirurgie von Wichtigkeit sind.

Bei der Behandlung dieser Frage müssen wir uns das gegenseitige Einwirken der Vitamine immer vor Augen halten, das je nach dem quantitativen Verhältnis synergistisch oder auch antagonistisch sein kann. Der Ueberschuß eines gewissen Vitamins kann sich, indem er die Wirkung des antagonistischen Vitamins hemmt, als entsprechende Hypo- oder Avitaminose, und umgekehrt, Avitaminosen können bisweilen Hypervitaminosen ähneln. Als Beispiel können Korrelationserscheinungen bei A. und D. und A. und C. dienen *(Wendt* und *Schröder)*.

Erst in den letzten Jahren erschienen eine Reihe chirurgischer Arbeiten, die sich mit der Frage der Wirkung des Vitamin A-Mangels auf das Knochensystem befaßten.

Vermutlich infolge Vitamin A-armer Ernährung stellten *E. B. Hart, A. Steenbock* und *S. Lepkovsky* eine gewisse Schwäche der Beine („legweakness") bei Vögeln fest.

Ohne es zu wissen, stellte *Watanabe* Versuche über Knochenbildung und A-Avitaminose an. (Er wollte Skorbutuntersuchungen ausführen, experimentierte aber mit Ratten, die dafür unempfindlich sind. Die Nahrung war A-vitaminlos). Er beobachtete keine Störung bei A-Vitaminmangel in der Knochenbildung.

Weiter wird von *W. Stepp* angegeben, daß das Knochenwachstum bei Tieren, die ungenügend Vitamin A erhalten, aufhört. Die Entscheidung, ob es sich um eine Folge des Mangels an Vitamin A handelt oder um Mangel an Vitamin D, war ihm z. Zt. noch nicht möglich. Später wird von *W. Stepp* die Anschauung von *May*

Mellanby vertreten, nach welcher dem Vitamin A die Aufgabe zufällt, die Wirkung des Vitamin D in bezug auf die Apposition des Kalks in optimaler Weise zu ermöglichen.

Ferner müssen auch nach Angabe von *W. Stepp* die Beziehungen mancher Knochenerkrankungen wie z. B. *Morbus Paget*, zu einem Mangel an Vitamin A stehen, die aber im einzelnen noch geklärt werden müssen.

Nach *Mc.Collum* treten bei Tauben, Hühnern und auch bei Mäusen rein osteoporotische Störungen auf, welche Veränderungen des Knochens durch ausschließlichen Mangel an fettlöslichen V. A (unter Wahrung der richtigen Verhältnisse Ca:P) auftreten.

Diese Knochenveränderungen, durch A und auch durch B Insuffizienzen hervorgerufen, gehören nach *B. Kihn* zu den reinen Osteoporosen. Sie können auch durch fettarme Kost und durch Inanition entstehen. Nach *B. Kihn* liegen diesen Erkrankungen eine Störung des Lipoid- sowie des Basen- und Säurestoffwechsels zugrunde. Folgendermaßen werden von ihm die Einzelheiten beschrieben: „Die Knochen sind makroskopisch dünn, hart, splittern leicht, Rinde wie Spongiosa zeigen schwere Resorptionserscheinungen. Der Säulen- und Wucherknorpel in den Epiphysen ist vermindert; die provisorische Verkalkungszone lückenlos erhalten und gut verkalkt. Die Knochenbälkchen sind allenthalben an Zahl vermindert, die noch vorhandenen Bälkchen äußerst schmal. Die Corticalis ist erheblich verdünnt, Osteoblasten fehlen, doch ist die Knochensubstanz von normalem Kalkgehalt. Entsprechend der geringen Anzahl der Knochenbälkchen sind die Marksäume weit. Ihr Blutreichtum fällt auf; da und dort ist es zu kleinen Blutungen in das Markgewebe gekommen. Die Markzellen selbst sind an Zahl erheblich vermindert, doch muß ihre Art gegenüber gesunden Tieren nicht unbedingt differieren. Hier und da sieht man in den langen Knochen zellarmes Gallertmark, sonst enthält das Mark gewöhnlich Leucocyten und deren Stammform. Wo Gerüstmark gebildet wird, findet man dünne Trabekel, die von dichten Osteoblastenlagen umsäumt werden und in ihren Zwischenräumen ein feines bindegewebiges Netzwerk tragen. Einzelne runde oder längliche Zellelemente sind eingestreut und allenthalben sieht man strotzend gefüllte Capillarästchen. Das Osteoid fehlt fast immer. Hier und da sind dennoch schmale Osteoidsäume vorhanden mit einzelnen

Osteoclasten und lacunären Buchten. Das Mark ist in einer großen Zahl von Fällen überhaupt frei von schweren Schädigungen. Jedenfalls unterscheidet sich die Art des Knochenprozesses von der skorbutischen nur quantitativ."

Die bis nun erwähnten Mitteilungen über die Wirkung der A-Avitaminose auf das Knochensystem stellen meist nur Vermutungen dar. Sie geben noch keine befriedigende Aufklärung und werden auch nicht allen klinischen Bedürfnissen gerecht.

Das Wesen der Beziehungen der Hypovitaminose A zu dem Knochensystem wird erst von *E. Schneider* richtig erkannt. Es wird die örtliche Hypovitaminose besonders von ihm in mehreren Arbeiten hinsichtlich der mit aseptischen Knochennekrosen einhergehenden Erkrankungen angeschnitten. Und auf der 60. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie versuchte *E. Schneider* nachzuweisen, daß die Hypovitaminose A für die Auslösung der Wachstumsmalacien ursächlich verantwortlich zu machen ist, insbesondere bringt er die sogenannte Epiphysennekrose zu einem relativen Vitamin-A-Mangel in Beziehung.

Durch Untersuchungen des Vitamin-A-Spiegels im Blut glauben *E. Schneider* und *Widmann* eine gemeinsame Grundlage für die verschiedenartigsten Knochenerkrankungen von der *Pagetschen* Krankheit angefangen, über die Lunatummalacie bis zu allen Knochenerkankungen, die als pathologisch-anatomische Grundlage eine aseptische Knochennekrose haben, also die *Perthessche, Köhlersche-Schlattersche* Erkrankung usw. gefunden zu haben.

Der Vollständigkeit halber erwähne ich die von *E. Schneider* genannte große Reihe von Erkrankungen mit aseptischen Knorpelknochennekrosen:

1. die Osteochondritis deformans coxae juvenilis *(Perthes)*;
2. die Erkrankung des Os naviculare pedis *(Köhler I)*;
3. die Apophysitis tuberositatis libiae *(Osgood-Schlatter)*;
4. die Apophysitis calcanei *(Blenke-Spitzy)*;
5. die Erkrankung des Metatarsalköpfchens II *(Köhler II)*:

diesen Erkrankungen ätiologisch wesensverwandt sind ferner:

6. die Malacie des Os lunatum
7. die Kyphosis dorsalis juvenilis *(Scheuermann)*.

Die Erniedrigung des Vitamin A-Spiegels im Blut bei diesen Erkrankungen war für *E. Schneider* noch kein erschöpfender Be-

weis; deshalb ging er an die Frage, welche Veränderung denn nun eine reine Avitaminose im Knochensystem im Tierexperiment bedingt. „Diese besteht zunächst in einer auffallenden Verschmälerung der Epiphysenlinie mit Störungen der Säulenanordnung des Knorpels, die teilweise nicht nur unregelmäßig und schmal werden, sondern auch richtige Kugelnekrosen aufweisen. An den Knochen selbst werden die Bälkchen spärlich und die Zeichen der Osteoporose deutlich. Streckenweise findet man im Bereich der Epiphysenlinie richtige Trümmerfeldzonen. Die Ursache hierfür ist jedesmal in der ungenügenden Anlieferung des Vitamin A zu sehen." *(E. Schneider.)*

E. Schneider gelang es, analoge Schädigungen auch durch Thyroxinverfütterung hervorzurufen.

Diese histologischen Veränderungen im Tierversuch dürfen aber nicht mit den menschlichen Knorpelknochennekrosen gleichgestellt werden, weil es sich im Versuch um eine reine A-Avitaminose handelt, bei der die übrigen Vitamine ausreichend geliefert wurden, während bei den Knochenerkrankungen lediglich das Absinken des Vitamin A-Spiegels im Blut festzustellen war und es beim Menschen dagegen mangels ungenügender Untersuchungsmethoden nicht entschieden werden kann, ob die übrigen Vitamine völlig ausreichend vorhanden sind oder nicht. Deshalb können die obigen Ergebnisse nur als Anhaltspunkte für die Art der vorliegenden Störung gewertet werden.

Im Tierversuch wurden diese Störungen durch Vitamin-A-Zufuhr rasch beseitigt. Bei Menschen verläuft die Heilung unter Vitamin-A-Zufuhr langsamer. Die Ansprechbarkeit ist mit zunehmendem Alter geringer.

Bei der *Ostitis fibrosa* bezw. *Osteodystrophia deformans Paget*, die eine generalisierte Knochenerkrankung darstellt, fanden E. *Schneider* und *Widmann* regelmäßig eine Herabsetzung des Vitamin-A-Gehaltes im Blut. Im Gegensatz hierzu stellten sie bei der *Osteodystrophia fibrosa generalisata v. Recklinghausen* keine A- sondern eine C-Hypovitaminose fest.

Folgt man den Erörterungen *E. Schneiders*, so könnte man allerdings die örtliche A-Vitaminose anerkennen und schließen, daß bei im ganzen erniedrigtem Vitamin-A-Gehalt der Gewebe durch einen starken Verbrauch an Stellen besonderer Beanspruchung

örtlich eine starke Erniedrigung, also örtlich eine starke Hypovitaminose entsteht. Zusammenfassend ist festzustellen, daß die A-Hypovitaminose sowohl hormonal (Hyperthyreodismus) als auch durch A-Mangel der Nahrung im Tierexperiment hervorgerufen wird.

A. II. Berichte über die wichtigsten Veränderungen der harnableitenden Wege bei der A-Avitaminose in der bisher erschienenen Literatur

Ich komme zu der Frage des Zusammenhanges des Vitamin-A-Mangels mit der Steinbildung in den harnableitenden Wegen.

Dieser Zusammenhang ist schon sehr lange Zeit bekannt und seither durch viele Arbeiten, besonders in der ausländischen Literatur, meist bestätigend, beschrieben worden. Es sei hier besonders auf die Arbeit von *H. J. Lauber* (Nierensteine und Vitaminstoffwechsel) hingewiesen.

Die Tatsache, daß in Ländern, deren Bevölkerung schlecht ernährt ist, fast endemisch Blasen- und Nierensteine auftreten, führte dazu, daß in letzter Zeit der Ernährung besondere Bedeutung beigemessen und auch als ein ätiologisches Moment angeführt wurde, das zu Nierensteinbildung führen könnte. So hat *Racic* vor einer Reihe von Jahren über endemisch auftretende Blasensteinbildung in Dalmatien bei Kindern berichtet und kam zur Annahme, daß es infolge der Unterernährung zu einem mangelnden Kolloidschutz des Harns und so zu einer Ausfällung von Salzen kommt. In demselben Sinne machen *Perlmann* und *Weber* nach einer Mitteilung von *Pfister* analoge Beschreibungen.

„Aber nicht allein die Veränderungen des Salzgehaltes des Urins werden bei der Unterernährung des Zustandekommens der Konkremente beschuldigt, sondern auch organische Veränderungen, die sich am Epithelsystem abspielen!“ *(Lauber.)* Es treten am gesamten Epithelsystem, in Form von Degeneration und Verhornung, Veränderungen auf. Darüber berichtet *Saiki*, weiterhin

Chaix, von der *Ryst* und *Arons*, *Seifried*, *Moriquand*, *Role* und *Chaix*, *Tacher* und *Sure* über Epithelmetaplasien schon in den frühesten Stadien der A-Avitaminose.

Durch die genannten Epithelveränderungen kommt es auch in den übrigen Organen zu einem Verlust des Abwehrvermögens gegen Infektionen (*Pfannenstiel*, *Jusatz*, *Lauber* u. a.). Die Folge davon ist, daß sich an vielen epithelialen Organen Infektionen zeigen. Und besonders bei Vitamin-A-Mangel kommt es in den Harnwegen zu schweren Infektionen. (*Melanby*, *Saiki*, *Batonneix*, *Pillat.*)

Lauber gemeinsam mit *Jehn* konnte durch experimentelle Untersuchungen Infektionen in den Harnwegen jedoch nicht nur bei der A-Avitaminose sondern bei sämtlichen Formen der Avitaminosen (B_1, B_2, C, D, E) nachweisen. Die typischen Epithelveränderungen finden sich jedoch nur bei der A-Avitaminose. Eine wesentliche Klärung der Zusammenhangfrage zwischen den ebengenannten Veränderungen an den Harnwegen und dem Zustandekommen von Steinen verdanken wir *Langen*. Durch eingehende histologische Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß es sich hierbei stets um ausgesprochene Entzündungssteine handelt. Entzündliche veränderte Epithelien bilden die Kristallisationszentren für die Steinbildung.

Die Häufigkeit der Steinbildung bei Vitamin-A-arm ernährten Ratten ist zum erstenmal experimentell 1917 von *Osborne* und *Mendel* gezeigt worden.

Seitdem sind viele Arbeiten, meist bestätigend, erfolgt. Die genannten Autoren fanden bei 857 Autopsien bei A-arm ernährten Ratten 91 positive Fälle, die in erster Linie aus Phosphor, Kalzium und Magnesium bestanden. Diese Arbeiten stammen aus einer Zeit, in der die Vitaminforschung noch in Anfängen war. 1927 haben die japanischen Forscher Saiki und Fuijmaki an einem großen Tiermaterial die Frage nachgeprüft. Die Zahl der positiven Fälle sind noch die gleichgerichteten Untersuchungen von Leersum. Auch hier zeigte sich unter 645 Vitamin-A-arm ernährten Ratten, in 197 Fällen, Steinbildung, während sich bei 241 Kontrolltieren in keinem Fall Konkrementbildung zeigte. Chemisch fand er sowohl Phosphate als auch Oxalate.

Higgins konnte bei Albinoratten in Versuchsreihen, die sich über 250 Tage erstreckten, bei 85 % der Tiere Blasensteine und bei

42 % Nierensteine erzeugen. Immer trat zunächst eine Harninfektion durch Fehlen des Epithelschutzvitamins auf. Diese Harninfektion war bei manchen Tieren schon nach 30 Tagen vorhanden; eine Niereninfektion meist nach 60—90 Tagen. Nach wenigen Wochen hatten 72 % der Tiere eine Blasen- und 42 % der Tiere eine Niereninfektion.

Higgins nimmt an, daß die abgeschuppten Epithelzellen allein nicht als Kerne für die Steinbildung in Betracht kommen, daß dagegen mitwirkt eine Reizung und lokale Läsionen des geschädigten Epithels, wodurch Fibrin und Mucin hervorgebracht wird.

B. Versuche und ihre Auswertung.

1. Versuchstechnik.

Versuchsbedingungen bei Ratten:

Die Tiere waren bei Beginn der Versuche vier Wochen alt und gleichaltrig. Sie wurden unter gleichen Lebens- und Ernährungsbedingungen gehalten. Die Tiere waren in Holzställen, mit einem Drahtnetzeinsatz als Sitzfläche versehen, untergebracht und wurden gleichartig gefüttert. Einer direkten Sonnenbestrahlung waren die Tiere nicht ausgesetzt. Eine zusätzliche Erwärmung fand nicht statt.

Die Versuchszeiten liefen vom 27. März 1938 bis 10. Juli 1938, also 15 Wochen.

Gesamtzahl der Versuchstiere: 30 Ratten, davon benutzte ich 25 als Versuchstiere und 5 Kontrolltiere.

25 Ratten erhielten die Vitamin-A-freie Diät nach *Schermann* und Wasser ad libitum. Bei fortschreitender Avitaminose wurde die Nahrung mitunter tagelang verweigert, besonders in der letzten fünfzehnten Woche.

Die Vitamin-A-freie Diät nach *Schermann* enthält:

Casein	18 %
Stärke	67 %

Hefe	10 %
Salzgemisch	4 %
NaCl	1 %

Sie wurde gemischt von der Firma „Merk", Darmstadt bezogen.

Zu einem Kilogramm der Mischung gab ich 5 ccm einer vitaminfreien Sesamöl hergestellten Lösung von kristallisiertem Vitamin D in einer Verdünnung des Handelsvigantols von 1:300. Die Mischung wurde unter Zugabe von Wasser zu einem Brei von Kuchenkonsistenz geglättet und flach ausgewalzt getrocknet. Die Zufuhr des Vitamin D in der Diät ist so bemessen, daß bei einer Aufnahme von 10 kg Futter die Ratte das doppelte des täglichen Bedarfs bekam.

Die ersten zwei Ratten wurden nach vier Wochen Fütterung mit der A-freien Diät-Kostform durch Aethernarkose getötet. Die anderen Ratten wurden jeweils zwei Stück in einem Intervall von acht Tagen auch durch Aethernarkose getötet. Gleich im Anschluß an den Tod erfolgte die Röntgenaufnahme und sofort nacher die Entnahme der betreffenden Organe (Epiphyse, Niere, Ureter und Harnblase). Die erwähnten Organe wurden nach der bewährten Hämatoxylin Eosin Färbung gefärbt.

B. 2. Das klinische Bild der Versuchstiere.

Die klinischen Erscheinungen bei den Vitamin-A-frei ernährten Ratten ähneln sich sehr, wobei das Gesamtbild dieser Erscheinungen am meisten charakteristisch nach einer Versuchsdauer von etwa 7 Wochen hervortritt.

Stillstand des Wachstums und Körpergewichtsverfall waren die ersten Symptome, die in die Augen fielen. In der ersten Woche wird die Vitamin-A-freie Kost von den Ratten verweigert. Im weiteren Verlauf des Versuches wird die Nahrungsaufnahme immer besser und damit auch das allgemeine Befinden. In der letzten 14. und 15. Woche des Versuches kam es zu einem er-

neuten Nachlassen der Nahrungsaufnahme, so daß die Kost jeweils tagelang verweigert wurde.

Das Allgemeinbefinden der Tiere am Anfange des Versuches war trotz der Verweigerung der Nahrungsaufnahme verhältnismäßig gut. Von der 13.—15. Woche wurde es immer schlechter und kurz vor Beendigung des Experimentes befand sich die letzte Gruppe in vollkommenem Erschöpfungszustand.

Besonders ist das Allgemeinbefinden der Ratte 4 zu erwähnen, die trächtig war, und wahrscheinlich durch den vermehrten Vitamin-A-Verbrauch während der Schwangerschaft kam es zu einem plötzlichen Kräfte- und Gewichtsverfall, so daß das Tier in vollkommenem Erschöpfungszustande getötet werden mußte. Diese Ratte zeigte struppiges Fell und auffallend stark ausgeprägte *Xerophthalmie* und *Keratomalacie*. Die Wimpern begannen auszufallen und gleichzeitig trat eine gewisse Lichtscheu auf. Die Sclera zeigte auffallende Trockenheit, die Cornea wurde trübe. Diese Ratte zeigte auch gewisse Fortbewegungsschwierigkeiten, doch konnte ich im Röntgenbild keine Veränderungen finden. Bei der Sektion fiel bedeutende Atrophie des subcutanen und des in der Bauchhöhle, pararenal sich befindenden Fettgewebes auf.

Diese Beschreibung des klinischen Bildes der Ratte 4 ist im großen und ganzen für die übrigen Ratten auch geltend. Doch muß besonders noch der Zustand der Ratte 11 hervorgehoben werden, die infolge der Verweigerung der Nahrung kachektisch wurde, daß ich sie von alleine zugrunde gehen ließ, um festzustellen, welche besondere Veränderungen auftreten werden. Bei der Autopsie war die Harnblase und der Ureter äußerst mit Harn gefüllt. Die Beschreibung des mikroskopischen Bildes ist in der Tabelle und bei den Versuchsergebnissen zu ersehen.

Der allgemeine Zustand der Kontrolltiere, die mit normaler Rattenkost ernährt wurden, war während der ganzen Untersuchungszeit vollkommen gesund.

Uebersichtshalber gebe ich eine Tabelle der 30 Versuchstiere.

Tabelle 30 Versuchstiere.

Gruppe	Zahl und Alter der Tiere	Versuchsdauer in Tagen u. Wochen	Allgemein klinische Erscheinungen	Veränderungen der Epiphyse im mikroskopischen Bild
I.	2 (Nr. 1 u. 2) 8 Wochen	28 Tg. 4 W.	Bei R. 1, 2, 3 war der allg. Zustand während der Untersuchungszeit vollkommen gesund	Normales histologisches Bild bei R. 1, 2 und 3.
II.	2 (Nr. 3 u. 4) 9 Wochen	35 Tg. 5 W.	R. 4 war trächtig, zeigte die ausgesprochenste Form der Xerophtalmie.	Vollkommen verändertes Bild gegenüber den ersten drei Versuchstieren. Die Epiphyse ist schmal und zeigt im mittleren Teil deutliche Nekrosen.
III.	2 (Nr. 5 u. 6) 10 Wochen	42 Tg. 6 W.	Stillstand des Wachstums und Gewichtsverfall, Conjunktivitis und die ersten Anzeichen der Xerophtalmie kennzeichnen das klinische Bild dieser Versuchstiere.	Die Epiphysenlinie der R. 5, 6, 7 und 8 sind schmal und unregelmäßig, keine Nekrosen festzustellen, nur stark vakuolenhaltige Zellen.
IV.	2 (Nr. 7 u. 8) 11 Wochen	49 Tg. 7 W.		
V.	2 (Nr. 9 u. 10) 12 Wochen	56 Tg. 8 W.	Das Allgemeinbefinden und das klinische Bild wie bei Gruppe III und IV, doch noch mit mehr ausgeprägter Xerophtalmie, besonders bei R. 9.	Zickzackförmiger Verlauf d Epiphysenlinie u. vakuolenhaltige Zellen. Der Ossifikationsvorgang ist fortgeschritten.
VI.	1 (Nr. 11) 13 Wochen	63 Tg. 9 W.	Auffallende Kachexie. Die Ratte ging von selbst zugrunde.	Die säulenförmige Anordnung der Zellen ist nicht mehr vorhanden.
VII.	2 (Nr. 12 u. 13) 14 Wochen	70 Tg. 10 W.	Das klinische Bild wie bei Gruppe 3 und 4	Auffallend unscharfe Epiphyse mit wenig dargestellten Knorpelzellen. Die Zellen sind vollkommen ungleichmäßig angeordnet.
VIII.	2 (Nr. 14 u. 15) 15 Wochen	77 Tg. 11 W.		
IX.	2 (Nr. 16 u. 17) 16 Wochen	84 Tg. 12 W.		
X.	2 (Nr. 18 u. 19) 17 Wochen	91 Tg. 13 W.	Wie vorher mit starker Kachexie und Entzündungserscheinungen an den Augenlidern.	Bei R. 18 größtenteils Kerne nicht mehr dargestellt und bei R. 19 die säulenförmige Anordnung nicht mehr zu erkennen. Außerdem kl. nekrotische Bezirke.
XI.	2 (Nr. 20 u. 21) 18 Wochen	98 Tg. 14 W.	Wegen Verweigerung der A-freien Kost wurden die Tiere kachektisch u. wegen erhebl. Schwäche- u. Abmagerungszustand. getötet.	Bei R. 20, 21 u. 22 sind mehrere deutliche nekrotische Partien festzustellen. Bei R. 23 sind die Kerne verwaschen dargestellt.
XII.	2 (Nr. 22 u. 23) 19 Wochen	105 Tg. 15 W.		

XIII. Nr. 24 u. 25 wurden im Laufe d. Versuchs von den übrigen Ratten aufgefressen.

Kontrolltiere:

5 Stück
19 Wochen alt

während der ganzen Versuchsdauer waren die Tiere gesund.

Der mikroskopische Befund ist völlig normal.

B 3a. Die Ergebnisse der mikroskopischen und röntgenologischen Untersuchungen der Epiphyse.[1])

Die Epiphyse legte ich in Formalin, schnitt sie in der Paraffineinbettung und färbte sie mit Haematoxylin-Eosin.

Ratte 1.

Die Epiphyse ist vollkommen scharf begrenzt. Zellen sind säulenförmig angeordnet, zeigen überall fastweg gute Kernfärbungen. Der Ossifikationsvorgang erscheint vollkommen normal.

Ratte 2.

An den Epiphysenlinien vollkommen normaler Befund.

Ratte 3.

Ueberall glatte Begrenzung und normale säulenförmige Anordnung der Zellen. Kerne sind in der Hauptsache gut gefärbt. Stellenweise normale Zellteilung erkennbar. Der Ossifikationsvorgang erscheint nicht gestört.

Ratte 4.

Größtenteils sind die Zellen nicht mehr säulenförmig angeordnet, sondern vollkommen unregelmäßig gelagert. Zellkerne größtenteils unscharf begrenzt, stellenweise kaum dargestellt. Gegenüber den vorhergehenden Präparaten erscheint die Epiphyse sehr schmal. Besonders im mittleren Teil deutliche Nekrosen zu erken-

[1]) Die Textabbildungen sind in der Zeitschrift für die gesamte Experimentelle Medizin, Sonderdruck aus 106. Band 1. und 2. Heft veröffentlicht: *H. J. Lauber. E. Hildebrand* und *P. Burgmann* Experimentelle Untersuchungen über die Veränderungen an den Epiphysen bei Ratten durch vitamin-A-freie Ernährung.

nen. Nach den Seiten zu sind die Kerne besser gefärbt. Die Knochenbälkchen sind reichlich und sehr plump. Die Markräume sind stark angefüllt. Die Proliferationszone ist sehr schmal. Der Ossifikationsvorgang erscheint bereits wesentlich gestört.

Ratte 5.

Die Epiphyse sehr schmal, säulenförmige Anordnung ist größtenteils erhalten. Die Zellen der Proliferationszone erscheinen sehr groß und vakuolenhaltig. Die Knochenbälkchen sind sehr schmal und zierlich. Die Epiphysenlinie verläuft unregelmäßig.

Ratte 6.

Größtenteils ist die säulenförmige Anordnung erhalten. Es sind reichlich Stellen vorhanden, in denen die Kerne nicht gefärbt sind. Die Kerne erscheinen sehr flach. Sehr reger Ossifikationsvorgang, der wenig gestört erscheint.

Ratte 7.

Es zeigen sich ganz vereinzelt Stellen, in denen Kerne nicht dargestellt sind. Es sind sehr reichliche Knochenbälkchen vorhanden, so daß man auf eine normale Funktion der Epiphyse schließen kann.

Ratte 8.

Epiphyse sehr unregelmäßig begrenzt. Die Säulenform ist noch angedeutet, doch sind die Zellen sehr groß und vakuolenhaltig. Zwischen den einzelnen Zellen breite und ausgefüllte Spalten. Nach dem Rand zu kommen die Kerne auf großen Strecken nicht zur Darstellung. Nach der Mitte zu eine außerordentlich starke Ossifikation mit reichen Knochenbälkchen und wenig Markräumen.

Ratte 9.

Sehr schmale Epiphyse in zickzackförmigem Verlauf nirgends mehr säulenförmige Anordnung der Zellen erkennbar. Die Zellen sind größtenteils stark vakuolenhaltig, die Kerne sehr stark gefärbt. Stellenweise fehlt jegliche Kernfärbung. Die Ossifikation ist sehr stark. Markräume sind nur klein und stark angefüllt.

Ratte 10.

Säulenförmige Anordnung ist nicht überall erhalten, am wenigsten in der Mitte. Stellenweise sehr schlechte Kernfärbungen. Die Ossifikation ist wenig gestört.

Ratte 11.

In der Mitte treten bereits die ersten Anzeichen der Verknöcherung in der Epiphyse auf. Größtenteils keine säulenförmige Anordnung der Zellen mehr. Teilweise sehr schwache Färbung der Kerne, die stellenweise überhaupt nicht zur Darstellung kommen.

Ratte 12.

Auffallend schmale, unscharfe, begrenzte Epiphysenlinie. Die Zellen erscheinen stark abgeflacht und unregelmäßig angeordnet An vereinzelten Abschnitten stellen sie sich nicht dar.

Ratte 13.

Ganz schmale unregelmäßig angeordnete Epiphyse mit wenig dargestellten Knorpelzellen.

Ratte 14.

Sehr schmale Epiphyse mit unscharfer Begrenzung. Zellen sind größtenteils unregelmäßig angeordnet. Stellenweise Kerne nicht dargestellt. Sehr reichliche Bildung von Knochenbälkchen, die plump erscheinen.

Ratte 15.

Die Zellen sind größtenteils vakuolenhaltig, stellenweise sind die Kerne überhaupt nicht mehr dargestellt. Einige nekrotische Partien sind dazwischen gelagert.

Ratte 16.

Sehr schmale Epiphyse mit unregelmäßigem Verlauf. Zellen sind vollkommen ungleichmäßig angeordnet.

Ratte 17.

Konnte wegen technischem Fehler histologisch nicht zur Darstellung gebracht werden.

Ratte 18.

Größtenteils Kerne nicht dargestellt. Ossifikationsvorgänge in mäßigen Grenzen.

Ratte 19.

Säulenförmige Anordnung nicht erkennbar. Zellen unregelmäßig gelagert. Kerne stellenweise nur angedeutet: kleine nekrotische Bezirke.

Ratte 20.

Die Zellen sind größtenteils noch säulenförmig angeordnet und sehr vakuolenhaltig. Zellkerne zum größten Teil nicht mehr dargestellt. Mehrere deutliche nekrotische Partien.

Ratte 21.

Wie Ratte 20.

Ratte 22 und 23.

Sehr reichlich nekrotische Partien. Die Zellen sind vakuolenhaltig. Kerne schon sehr verwaschen dargestellt und sehr reichliche Interzellularsubstanz.

Eine Uebersicht der mikroskopischen Befunde ist in der Tabelle zu ersehen.

Im Röntgenbild konnte ich keine Veränderungen an der Epiphyse, wie auch am gesamten Knochensystem finden.

Zusammenfassung der histologischen Befunde von den Versuchstieren.

Irgendwelche Einflüsse von der Einwirkung der Vitamin-A-armen Kostform ist bei Tier 1, 2 und 3 nicht festzustellen.

Bei Tier 4 ist eigenartigerweise trotz der kurzen Behandlung ein völlig veränderter miskroskopischer Befund der Epiphyse, der durch die deutlichen Nekrosen charakterisiert ist, festzustellen. Es ist anzunehmen, da die Ratte trächtig war, daß die letzte Vitamin-A-Reserve aufgebraucht wurde, und da auch kein neues Vitamin A zugeführt werden konnte, die Veränderungen innerhalb der Epiphyse mit dem Vitamin-A-Mangel in Zusammenhang stehen können.

Obwohl die Tiere 5, 6, 7, 8, 9 und 10 42—56 Tage Vitamin-A-arm ernährt wurden, sind die Epiphysenveränderungen nicht so eklatant wie bei Ratte 4. Der Grund hierfür dürfte wohl in der individuell verschiedenen Ansprechbarkeit liegen.

Bei Ratte 11 ist trotz des kachektischen Endzustandes keine abweichende Veränderung der Epiphyse von den vorhergehenden Ratten festzustellen.

Bei den übrigen Tieren ist bei der Vergleichung der Präparate eine langsam zunehmende Veränderung der Epiphyse im Sinne der Nekrosen sowie vakuolenhaltigen und nicht mehr säulenförmigen Anordnung der Zellen festzustellen. Außerdem kann man bei der Vergleichung der Präparate den fortschreitenden Ossifikationsvorgang sehen.

Die Kontrolltiere.

Sie wurden im Alter von 19 Wochen zugleich mit den Versuchstieren 22 u. 23 getötet. Vergleichend ist der bei den normal und Vitamin-A-arm ernährten Tieren schon fortgeschrittene Ossifikationsvorgang. Was jedoch die Bilder unterscheidet, ist die völlig normale Epiphyse der Kontrolltiere. Die Epiphyse ist noch sehr stark begrenzt. Die säulenförmige Anordnung der Zellen ist erhalten. Die Kerne sind sehr gut gefärbt. Während bei den Versuchstieren 22 und 23 die Kerne sehr verwaschen dargestellt sind. Die Zellen vakuolenhaltig und reichlich nekrotische Bezirke.

3b. Die Ergebnisse der mikroskopischen und röntgenologischen Untersuchungen der harnableitenden Wege.

Was die Veränderungen in den harnableitenden Wegen anbetrifft, so konnte ich nicht, wie die schon genannten Autoren (*Osborne* und *Mendel*, *Saiki* und *Fujimaki*, *Leersum*, *Higgins*, *Langen* u. a.), Entzündungserscheinungen und Konkrementbildungen im Röntgenbild sowie auch im mikroskopischen Bilde feststellen.

C. Zusammenfassung.

Zusammenfassend die Ergebnisse der von *E. Schneider* geführten Untersuchungen kommt man zu dem Resultat, daß die

Ursache der subchondralen Nekrosen in einem lokalen Vitaminschaden zu erblicken sind.

Im großen und ganzen sind bei den Untersuchungen in dieser Arbeit dieselben Veränderungen, wie sie bereits *Schneider* mitgeteilt und durch Bilder belegt hat, gefunden worden. Wenn wir uns nun die Frage vorlegen, welche Bedeutung diese Befunde für die Klinik haben, so möchten wir die Ergebnisse nur mit aller Vorsicht beurteilen. Zunächst ist daran festzuhalten, daß diese Untersuchungen lediglich an Ratten gemacht wurden, also an Vierfüßlern und daß darum auch gerade Veränderungen am Skelettsystem nur sehr schwer direkt mit den pathologischen Befunden der Klinik in Vergleich zu ziehen sind. Ich fand ebenso wie *Schneider* degenerative Prozesse an den Epiphysen mit nekrotischen Einlagerungen. Ebenso war wie in einem Teil der Beobachtungen der Ossifikationsvorgang deutlich gestört. Klinisch kam diese Veränderung bei den Ratten im Wachstumsstillstand zum Ausdruck. Ob diese Veränderungen nun allerdings einzig und allein durch den Vitamin-A-Mangel zustande gekommen sind, oder ob es infolgedessen auch sekundär zu weiteren Stoffwechselstörungen auf anderen Gebieten gekommen ist, vermögen wir nicht sicher zu entscheiden. Man muß auch mit anderen Formen von Hypovitaminosen rechnen, denn, wie schon vorher erwähnt, waren die Tiere infolge von Freßunlust allgemein quantitativ unterernährt. Bei sämtlichen Formen der A-Avitaminosen kommt es über kurz oder lang zu einer Freßunlust und die Folge davon ist eine zu geringe Zufuhr auch der übrigen Vitamine, so daß letzten Endes zwar die A-Avitaminose im Vordergrund steht, jedoch auch mit Mangelerscheinungen der übrigen Vitamine zu rechnen ist. Es handelt sich auch hier sicherlich häufig um polihypovitaminotische Erscheinungsformen. Dadurch ist natürlich ein sehr komplizierter Vorgang im Organismus geschaffen, den wir im einzelnen nicht übersehen können. Es ist aus diesem Versuch lediglich zunächst der Schluß zu ziehen, daß es durch A-avitaminotische Ernährung mit ihren Folgeerscheinungen gelingt, schwerste Wachstumsstörungen an den Epiphysen hervorzurufen. Diese Störungen sind nicht auf eine Epiphyse beschränkt, sondern am gesamten Organismus vorhanden. Außerdem kommt es zu den bereits erwähnten und bekannten Wachstumsstörungen, also zu einer funktionellen

Schädigung der Epiphyse. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß keine Veränderung festzustellen war, die etwa auf eine Perthesche Erkrankung oder auf eine andere Form der subchondralen Nekrose hindeutete. Nach neuerer Anschauung sieht man die Ursache der Pertheschen Erkrankung in einer kongenitalen minderwertigen Anlage des Skelettsystems, ferner in blanden Infektionen und schließlich eine Reaktion des Knochens im Sinne von Umbauprozessen durch dauernde enorme Beanspruchung. Histologisch findet man bei der Pertheschen Erkrankung Nekrosen unterhalb des Knorpels, die im späteren Stadium auch mit einer Veränderung der Epiphyse einhergeht. In den ersten Stadien dagegen ist die Epiphyse selbst nicht mit in den Prozeß gezogen so daß die Möglichkeit und sogar die Wahrscheinlichkeit nahe liegt, daß es sich bei den hier gefundenen epiphyseren Veränderungen um sekundäre Erscheinungen handelt. Somit ist auch kein Grund vorhanden, anzunehmen, warum gerade die *Perthesche* Erkrankung, die *Lunatummalacie*, die *Köhlersche* Erkrankung oder irgendeine in die Gruppe der subchondralen Nekrosen gehörigen Veränderungen nun unbedingt auf einen Vitamin-A-Mangel, sei er lokaler oder allgemeiner Natur, zurückgeführt werden soll. Es wäre durchaus nicht verständlich, warum man bei den Patienten nur immer eine Erscheinungsform klinisch feststellen soll, z. B. die *Perthesche* oder die *Köhlersche* Erkrankung, dagegen nur ganz vereinzelt einmal bei einem Patienten mehrere Erkrankungen dieser Gruppe. Außerdem ist es auch völlig unerklärlich, warum lediglich ein bestimmter Körperabschnitt, Hüfte usw. befallen wird, und so äußerst selten beide Hüftgelenke bezw. beide Mondbeine, hingegen kaum jemals eine andere epiphysere Gegend. Es kommen jedoch auch an anderen Körperabschnitten epiphysere Degenerationen vor und nicht lediglich an der Schenkelhalsepiphyse. Bei kritischer Betrachtung ist zu sehen, daß auf Grund der in dieser Arbeit geführten Untersuchungen kein Anlaß vorhanden ist, einen Vitamin-A-Mangel bei den Erkrankungen der subchondralen Nekrosen zu konstruieren. Es ist jedoch vorstellbar, ein Beweis steht allerdings noch aus, daß es bei weiterer Versuchsdauer evtl. zu einer Lösung der Epiphyse gekommen wäre. Bei einem Vergleich mit der menschlichen Pathologie wäre dies um so leichter verständlich, als hier fast das gesamte Körpergewicht auf dem

Schenkelhals ruht, während es bei unseren Versuchstieren z. T. auf die vorderen Extremitäten übertragen wurde. Der Mensch ist also in dieser Beziehung wesentlich schlechter als ein Vierfüßler dran, und unter Berücksichtigung dieser mechanischen Momente wäre eine Epiphysenlösung als eine Folge von Ernährungsstörungen durchaus vorstellbar. Ich fand bei keiner Epiphyse, trotz genauester Beachtung, bei den Versuchstieren irgend eine Veränderung im Sinne einer Epiphysenlösung. Ich weise darauf hin, daß die Versuche im ganzen sich über fünfzehn Wochen erstreckten und daß es evtl. bei weiteren Veränderungsgraden der schweren degenerativen Veränderungen im Laufe späterer Wochen zu einem derartigen Zustand doch vielleicht hätte kommen können. Man kommt also zu dem Ergebnis, daß es im Experiment einwandfrei gelingt, durch Vitamin-A-freie Ernährung bei Ratten schwerste Epiphysennekrosen zu erzeugen, dagegen sind keine Veränderungen im Sinne einer subchondralen Nekrose zu finden. Gleicherweise gibt es auch keinen Anhaltspunkt dafür, daß Vitamin-A-Mangel eine derartige Erkrankung hervorzurufen imstande ist.

Obwohl meine Beobachtungen über die Veränderungen der harnableitenden Wege durch die A-Avitaminose sich mit den so zahlreichen Befunden aus der Literatur nicht decken, hebe ich dennoch selbst hervor, daß es ein gewagtes Unterfangen ist, aus einer so geringen Menge von Versuchstieren und demzufolge kurzer Versuchsdauer, bindende Schlüsse zu ziehen.

Zum Schlusse möchte ich Herrn *Dozenten Dr. H. J. Lauber* für die freundliche Ueberlassung des Themas sowie für die mir in liebenswürdigster Weise erteilten Anregungen, Ratschläge und Unterstützungen meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Lebenslauf.

Am 12. März 1913 wurde ich, Pius Leonhard Burgmann, als Sohn des Bahnmeisters Theodor Burgmann und seiner Ehefrau Elisabeth geb. Rach, in Storojinetz (Rumänien) geboren. In meinem Geburtsort besuchte ich die Volksschule sowie das Lyzeum, nach bestandener Reifeprüfung in Czernowitz (Rumänien) immatrikulierte ich an der Medizinischen Fakultät in Breslau. Hier studierte ich zwei Semester und ging von hier bis zum Schluß meines Studiums nach Marburg.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren in Breslau: Buder, von Eggeling, Heidsieck, Mayer, Pax II, Schaefer, Schmitz, Thörner; in Marburg: Alverdes, Becher, Boeminghaus, Dabelow, Dittler, Enke, Förster, Habs, Gremels, Grüneisen, Grüter, Jacobshagen, Kehrer, Kestermann, Klapp, Klewitz, Kretschmer, Kutscher, Laubender, Lauber, Loebell, Mattes, Nauck, H. O. Neumann, Pfannenstiel, Rosemann, Rollshofen, Rix, Schedtler, Schwenkenbecher, Uffenorde, Versé, Winkler, Wiskott, Zeiger.

Literatur.

Batonneix, Gaz. Hôp. 1934, 8. Dez.

Bomskov, Christian, Methodik der Vitaminforschung.

Bruner, Karl, Die Einwirkung der Vitamine, endokrinen Drüsen des autonomen Nervensystem und der Knochenautolysate auf die Knochenregeneration, chemische Vorgänge bei der Knochenregeneration. Disert.

Chaix-Audemard, Lyon, Imprimerie M. Audin & Cie. 1931, S. 249.

Higgins, Experimentelle und klinische Studien, 1935.

Langen, M m. W. 1928, Nr. 51, S. 2167.

Lauber, H. J., Nierensteine und Vitaminstoffwechsel, Medizinische Klinik, Nr. 52, 1937.

Lepkowsky, Americ. Journ. of physiol. 59, 1922, p. 335 zit. nach W. Stepp.

van Leersum, Nederl. Tijdschr. Geneesk. (65) 1921.

Mellanby, J. americ. med. Assoc. 96, 325 (1931).
Brit. med. J. 1926, 1, 515; 1930, 1, 677;
J. americ. med. Assoc. 1931, 96, 325. zit. n. Stepp, Kühnau, Schröder.

Mouriquand, Rollet u. Chaix, Bull, Acad. méd. 105, 646 (1931).

Osborne u. Mendel, J. of. biol. Chem, 29 (1917).

Perlmann u. Weber, M. m. W. 1928, Nr. 51, S. 2167. — D. m. W. 1928, S. 1045.

Pillat, Presse méd. 1934, 1744. — Merks Jahresbericht 1935.

Racic, zit nach Boshammer.

van der Ryst u. Aron, Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 76, 5445 (1932).

Saiki, D. m. W. 1927, Nr. 1, S. 517 und Ref. z. Vitaminforschung.

Seifried, Studies Rockefeller. Inst. for. med. res. 76, 619 (1931).

Seyderhelm, R., Die Hypovitaminosen.

Schneider, Arch. klin. Chir. 186, 267 (1936).
„ 187, 617 (1936).
„ 188, 92 (1937).
„ 189, 288 (1937).
S. Lit. daselbst.

Stepp, Kühnau, Schroeder: Die Vitamine und ihre klinische Anwendung 1938, S. 24, 30.

Stepp, W., György, P.: Encyklopaedie der klinischen Medizin 1927. Avitaminosen und verwandte Krankheitszustände. S. 41, 43, 137, 149.

Thacher und Sure: Arch. Pathology 13, 756 (1932).

Watanabe, Virchows Archiv 251 (1924) zit. nach Brunner.